第35卷 第3期 昆虫学报 Vol. 35, No. 3
1992年8月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1992

溴氰菊酯对家蝇细胞色素 P-450 含量的影响

黄俊勇 冷欣夫
(中国科学院动物研究所,北京 100080)

摘要 本文研究了溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇 *Musca domestica vieina* 腹部微粒体细胞色素 P-450 的诱导作用。结果表明溴氰菊酯对 P-450 有一定的诱导作用,在低于 LD_{50} 的浓度范围内,浓度高的溴氰菊酯作用较明显,浓度低的溴氰菊酯在重复处理家蝇后也显示出诱导作用。这种诱导作用在24小时内有随时间的延长而增强的趋势。另外对照组与处理组的 P-450 CO 差光谱的特征吸收峰的波长均为 451nm,表明诱导作用未改变 P-450 的光谱性质。

关键词 家蝇 细胞色素 P-450 溴氰菊酯

细胞色素 P-450(简称 P-450)是多功能氧化酶的末端氧化酶,它既是氧的激活酶,又是底物的结合部位。是许多外源性药物,如杀虫剂和环境有害化学物质的主要代谢酶系之一(Chang 等,1975; Kulkarni 等 1980),而且在昆虫体内对杀虫剂的抗性和选择毒性、对寄主植物的适应性等许多方面都起着重要作用(Yu,1984; Daniel 等, 1985), P-450 的一个显著特点是许多有机化合物能诱导增加酶的含量和活性,最典型的诱导剂是苯巴比妥钠(PB)和3-甲基胆蒽(3-MC)(Ioannides 等,1987)。许多杀虫剂对昆虫体内的 P-450 也有诱导作用;如有机氯杀虫剂中的 DDT、DDE 和氯丹等,环戊二烯类杀虫剂中的艾氏剂、狄氏剂,磷酸酯类杀虫剂和保幼激素类似物等,对 P-450 均有明显的诱导作用(Bunyan 等,1970; Lucier 等, 1972)。但目前在防治害虫方面被广泛应用的拟除虫菊酯类杀虫剂与 P-450 酶系的相互作用机制尚不清楚,该类杀虫剂在昆虫体内直接诱导或抑制 P-450 的研究尚未见报道。有试验表明,在昆虫中抗拟除虫菊酯类品系的 P-450 含量及其氧化酶活力均较相对的敏感品系高(沈建华等, 1986; Scott 等, 1986、1990)。说明拟除虫菊酯类杀虫剂在昆虫体内可能是一种潜在的 P-450 的诱导剂。本试验选用拟除虫菊酯类中具代表性的溴氰菊酯作为诱导剂,研究其对正常品系雌性家蝇 *Musca domestica vieina* 腹部中微粒体 P-450 的诱导作用,将有助于了解拟除虫菊酯类杀虫剂在昆虫体内的作用机制。

材料与方法

溴氰菊酯(Deltamethrin)为法国罗素优克福(Roussel-Uclaf)公司提供纯品,纯度>99%;牛血清蛋白为 Sigma 公司产品;其它试剂均为国产分析纯。

正常品系家蝇由动物研究所药剂毒理室正常品系家蝇接种后传代饲养。

本文于1991年2月收到。

溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇的 $LD_{50} = 0.0006 \mu g$/头。

羽化后四天的家蝇经乙醚麻醉后，选出雌性个体，将一定浓度的溴氰菊酯丙酮溶液按 0.98 μl/虫天的剂量滴于家蝇腹部，并以相同剂量的丙酮液处理组为对照，俟其苏醒后置于饲养笼中继续喂养。在试验的不同时间将家蝇置于－20℃冰柜中，冷冻处死。随后用液态氮处理，并在 0—4℃ 条件下迅速分拣出与胸部分离的腹部，按 Kulkarni 等(1975)的方法制备家蝇腹部微粒体蛋白，并经如下改进：在缓冲液中加入 0.4m mol/L PMSF 和 0.25m mol/L α-巯基乙醇。所得微粒体蛋白液贮存于－20℃冰柜中备用。

微粒体中 P-450 含量的测定方法按 Omura 等 (1964) 的方法，消光系数为 91(m mol/L)$^{-1}$cm^{-1}。溶液中蛋白质含量的测定按 Lowry 法(1951)，以牛血清蛋白为校正。

结 果

一、24 小时内溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部 P-450 含量的影响

表 1 的结果表明，当用一定量的溴氰菊酯丙酮溶液 (浓度为 5×10^{-7}mol/L) 处理家

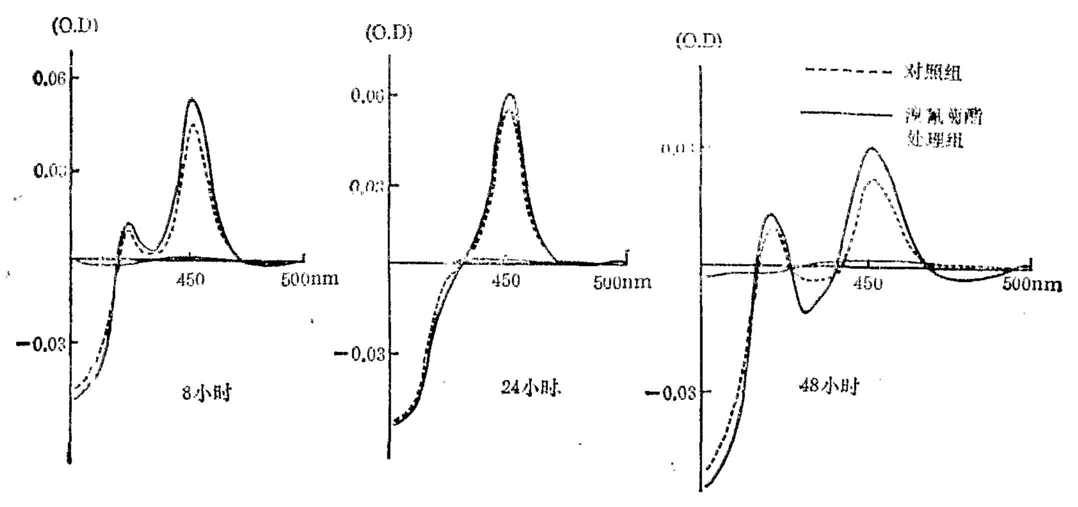


图 1 溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部微粒体 P-450 的影响

测定时处理组与对照组的微粒体蛋白质含量保持一致，均为 1.6 或 2.0mg/ml；λ_{max}:451nm。

表 1 溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部中微粒体细胞色素 P-450 的影响

处理时间(小时)	细胞色素 P-450 含量(nmol/mg 蛋白)	
	对 照 组	溴氰菊酯处理组
2	0.222±0.028	0.255±0.035
4	0.191±0.032	0.273±0.078
8	0.194±0.031	0.262±0.019***
16	0.197±0.038	0.269±0.062*
24	0.188±0.030	0.283±0.089**

取 0.98μl 浓度为 5×10^{-7}mol/L 的溴氰菊酯丙酮溶液分别滴于正常品系家蝇腹部后继续饲养，于不同时间取样；对照组用丙酮溶液处理。

* $P<0.10$ ** $P<0.05$ *** $P<0.01$

蝇腹部后，对照组在24小时内的 P-450 含量未见显著变化。但处理组在8、24小时较对照组有显著差异，这说明溴氰菊酯对家蝇体内 P-450 有诱导作用。对照和处理组的 P-450 CO 差光谱图见图1，其特征光吸收峰波长均为451nm。

二、不同浓度的溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部微粒体 P-450 含量的影响

取一定量的不同浓度溴氰菊酯丙酮溶液处理家蝇腹部，分别处理一天(24小时)和处理二天(48小时，1次/天)。从表2的试验结果可以看出，在处理一天的各浓度组中，只有浓度较高的二个处理组与对照组微粒体 P-450 含量的增加有显著差异。而连续处理二天的各试验组与对照组相比，P-450 含量均有显著增加。P-450 CO 差光谱图见图1。图中421nm波长处的吸收峰为 P-450 变性成无活性状态时的光谱特性。

表2　不同浓度的溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部微粒体细胞色素 P-450 的影响

	试验处理时间(天)	溴氰菊酯处理组 (mol/L，0.98μl/虫天)				
		对　照	5×10^{-8}	1×10^{-7}	2.5×10^{-7}	5×10^{-7}
细胞色素 P-450含量	1	0.210±0.029	0.217±0.026	0.238±0.020	0.273*±0.033	0.273*±0.013
(nmol/mg 蛋白质)	2	0.181±0.026	0.342**±0.091	0.267*±0.049	0.298**±0.067	0.274*±0.062

* $P<0.05$　** $P<0.01$

讨　　论

在杀虫剂和增效剂等诱导昆虫体内微粒体 P-450 的研究中，有试验表明，用马拉硫磷、增效醚、增效胺等处理对地亚农抗性品系家蝇产生的CO差光谱特征吸收峰从448nm(未被诱导)移至450nm。而对马拉硫磷抗性品系家蝇，上述药剂不影响 P-450 CO 差光谱性质。在 Fc 家蝇品系中，CO 与还原型的 P-450 结合后，形成的 P-450 特征吸收峰的波长为449nm(Perry 等，1971; Tate 等，1973)。另外3-MC诱导的大白鼠肝微粒体的 CO 差光谱的特征吸收峰为448nm，而苯巴比妥钠诱导则为450nm (Ioannides 等，1987)。这说明有些诱导剂的作用使 P-450 的光谱性质在一定程度上产生了差异，而不同的诱导剂所诱导的 P-450 的光谱性质也不完全相同。本试验的结果表明，经溴氰菊酯处理的正常品系雌性家蝇与对照组相比，其 P-450 的 CO 差光谱性质未起变化，特征吸收峰波长均为451nm，见图1。从表1和表2的结果来看，溴氰菊酯对正常品系的雌性家蝇腹部微粒体 P-450 有一定的诱导作用。并且在24小时内，这种诱导作用有随作用时间的延长而加强的趋势。浓度低于 LD_{50} 的溴氰菊酯对正常品系雌性家蝇腹部微粒体 P-450 的作用随浓度的增加而增强。连续二次处理（每天一次）与只处理一次的结果比较，在二次处理组中，浓度低的溴氰菊酯对 P-450 也有较明显的诱导作用。目前还不清楚这种诱导作用是发生在哪一级分子水平，如 DNA 的转录、mRNA 的转译速率或蛋白质的分解代谢等。有报道说，家蝇抗二氯苯醚菊酯品系的 P-450 含量较敏感品系高2.4倍 (Devries 等，1981)，LearnpyR (LPR) 家蝇抗拟除虫菊酯品系较敏感品系高3.8倍 (Scott 等，1986)，淡色库蚊的抗拟除虫菊酯品系较敏感品系高近二倍 (沈建华等，1986)。说明昆虫抗性品系 P-450 含量及氧化酶活性较敏感品系高的特性是有遗传特性

的。但也有一些试验表明，用乙醇、丙酮或咪唑等化合物处理大白鼠或家兔后，发现肝微粒体 P-450 含量增加而不伴随转译 P-450 蛋白质的 mRNA 含量的增加，甚至出现减少的现象，因此认为这一类化合物的诱导作用不是发生在转录水平（Poter 等，1989）。现尚不清楚是否具有普遍意义。因此杀虫剂的诱导机制有待进一步深入研究，这对于杀虫剂在昆虫体内的氧化代谢和昆虫对杀虫剂的抗性机制和选择毒性的研究都具有重要意义。

参 考 文 献

沈建华等 1986 淡色库蚊幼虫微粒体细胞色素 P-450差光谱研究。科学通报4: 308。

Bunyan, P. J. et al. 1970 The effects of 1, 1-di-(p-chlorophenyl)-2, 2, 2-trichloroethane (DDT) and 1, 1-di-(p-chlorophenyl)-2, 2-dichloroethylene (DDE) on hepatic microsomal oxidase in rat and Japanese quail. *Biochemi. J.* **118**: 51.

Chang, L. L. et al. 1975 Biochemistry of detoxification in insects: Microsomal mixed-function oxidase activity in the house fly (*Musca domestica*). *Insect Biochemi.* **5**. 92.

Daniel, R. V. et al. 1985 Cytochrome P-450 in insects. 6. Age dependency and PB induction of cytochrome P-450, P-450 reductase, and monooxygenase activities in susceptible and resistant strain of *Musca domestica*. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **23**: 171.

Devries, D. H. et al. 1981 Absence of enhanced detoxication of permethrin in pyrethroid-resistant house flies. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **15**: 242.

Ioannides, C. et al. 1987 The cytochrome P 488——a unique family of enzymes involved in chemical toxicity and carcinogenesis. *Biochemi. Pharmacol.* **36**(24). 4197.

Kulkarni, A. P. et al. 1975 Microsomal cytochrome P-450 from the housefly, *Musca domestica*: Assay and spectral characterization. *Insect Biochemi.* **5**: 679.

Kulkarni, A. P, et al. 1980 Metabolism of insecticides by mixed function oxidases systems. *Pharmacol. Ther* **8**: 379.

Lowry. O. H. et al. 1951 Protein measurements with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chemi.* **193**: 265.

Lucier, G. W. et al. 1972 Effects of chlordane and methylmercury on the metabolism of carbaryl and carbofuran in rats. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **2**. 244.

Omura. T. et al. 1964 The carbon monoxidebinding pigment of liver microsomes. 1. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chemi.* **239**(7): 2370.

Perry, A. S. et al. 1971 Induction and repression of microsomal mixedfunction oxidases and cytochrome P-450 in resistant and susceptible house flies. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **1**: 131.

Poter, T. D. et al. 1989 Induction and Tissue-specific expression of rabbit cytochrome P-450 IIE1 and IIE2 genes. *Molecular Pharmacol.* **36**: 61.

Scott, J. G. et al. 1986 Mechanisms responsible for high levels of permethrin resistance in the house fly. *Pesti. Sci.*, **17**: 195.

Scott, J. G. et al. 1990 Biochemical changes in cytochrome P-450 monooxygenases of seven insecticide resistant house fly (*Musca domestica* L.) strains. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **36**(2): 127.

S. J. Yu, et al. 1984 Interations of allelochemicals with detoxication enzymes of insecticidesusceptible and resistant fall armyworms. *Pesti. Biochemi. Physiol.* **22**: 60.

Tate. L. G. et al. 1973 Cytochrome P-450 difference spectra of microsomes from several insecticide-resistant and susceptible strains of the house fly, *Musca domestica* L.. *Chemi. Biol. Interact.* **6**: 237.

INFLUENCE OF DELTAMETHRIN ON MICROSOMAL CYTOCHROME P-450 ACTIVITY OF SUSCEPTIBLE HOUSE FLIES (*MUSCA DOMESTICA VICINA* L.)

HUANG JUN-YONG LENG XIN-FU

(*Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing* 100080)

This paper deals with the effect of deltamethrin on the microsomal cytochrome P-450 of female susceptible house flies (*M. domestica vicina*). The microsomal cytochrome P-450 content (nmol/mg pratein) of house-fly abdomen was significantly induced by treatment with 0.98ul/abdomen of deltamethrin (5×10^{-7}mol/L, in acetone) for 8 and 24 hours. From the results of experiments with different concentrations, it showed that the higher the concentration of deltamethrin, the stronger the effect of induction. When the house flies were treated successively with lower doses for two days, the microsomal cytochrome P-450 contents were also obviously induced. There was no change in the CO-difference spectrum of cytochrome P-450 (max: 451nm) in the induced groups and in comparison with the control.

Key words *Musca domestica* vicina L.——cytochrome P-450——deltamethrin